

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号
特開2001-255267
(P2001-255267A)

(43)公開日 平成13年9月21日(2001.9.21)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
G 0 1 N 21/27		G 0 1 N 21/27	C 2 G 0 4 5
33/483		33/483	C 2 G 0 5 9
33/543	5 9 5	33/543	5 9 5
33/553		33/553	

審査請求 未請求 請求項の数15 O L (全 10 頁)

(21)出願番号 特願2000-65983(P2000-65983)

(22)出願日 平成12年3月10日(2000.3.10)

(71)出願人 591243103
財団法人神奈川科学技術アカデミー
神奈川県川崎市高津区坂戸3丁目2番1号
(71)出願人 396020800
科学技術振興事業団
埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(71)出願人 000004226
日本電信電話株式会社
東京都千代田区大手町二丁目3番1号
(74)代理人 100091384
弁理士 伴 俊光

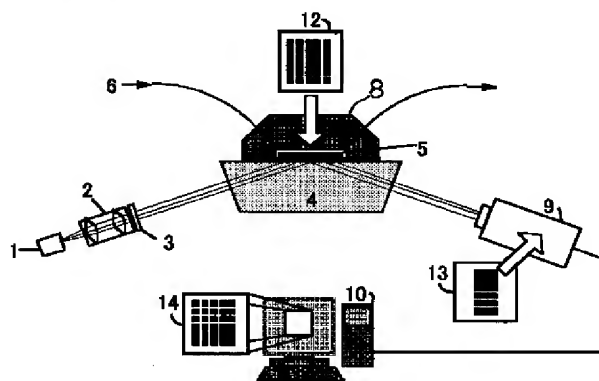
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置および測定方法

(57)【要約】

【課題】 アスペクト比を補正する機能を有し、被測定物質の実際のアスペクト比に合致した測定データが得られる2次元表面プラズモン共鳴測定装置を提供するとともに、さらに、抗原抗体反応などの生体物質や遺伝子の多チャンネル測定、生物や細胞の物質の代謝などの様子を測定する方法を提供する。

【解決手段】 被測定物質に接する金属薄膜を表面上に備えたプリズムと、光源からの光をp偏光光の平行な光束としてプリズム側から入射させる入光手段と、金属薄膜からの表面プラズモン共鳴現象による吸収を含んだ反射光の2次元の受光光量を測定する受光手段とを有し、前記入光手段により光束を前記金属薄膜の面に対し斜めに入射することによる、反射光のアスペクト比の被測定物質の金属薄膜への接触面におけるアスペクト比に対する歪みを補正する手段を備えたことを特徴とする2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置、およびそれを用いた測定方法。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 被測定物質に接する金属薄膜を表面上に備えたプリズムと、光源からの光をp偏光光の平行な光束としてプリズム側から入射させる入光手段と、金属薄膜からの表面プラズモン共鳴現象による吸収を含んだ反射光の2次元の受光光量を測定する受光手段とを有し、前記入光手段により光束を前記金属薄膜の面に対し斜めに入射することによる、反射光のアスペクト比の被測定物質の金属薄膜への接触面におけるアスペクト比に対する歪みを補正する手段を備えたことを特徴とする2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置。

【請求項2】 前記アスペクト比を補正する手段が、コンピュータなどの演算処理手段からなる、請求項1に記載の測定装置。

【請求項3】 前記アスペクト比を補正する手段が、反射光をアナモフィックレンズを使用して補正する手段からなる、請求項1に記載の測定装置。

【請求項4】 前記アスペクト比を補正する手段が、反射光をアスペクト比補正用のプリズムを使用して補正する手段からなる、請求項1に記載の測定装置。

【請求項5】 前記アスペクト比を補正する手段が、2次元の受光光量を測定する素子を測定面に平行に保ったまま、反射光の角度に応じて移動させる機構を有する手段からなる、請求項1に記載の測定装置。

【請求項6】 前記アスペクト比を補正する手段が、アスペクト比の補正量を任意に変えることのできる手段からなる、請求項1～5のいずれかに記載の測定装置。

【請求項7】 光源に、光ファイバにより伝播された光が用いられている、請求項1～6のいずれかに記載の測定装置。

【請求項8】 角度を走査して得られた複数の画像データにおいて、ある一点もしくは複数の点を指定し、その点における反射強度を抽出、グラフとして描画することのできるコンピュータなどの演算処理装置を有する、請求項1～7のいずれかに記載の測定装置。

【請求項9】 被測定物質の任意の領域を測定するため、被測定物質、あるいは、プリズムと被測定物質の両方を測定面に平行に移動することができる機構を有する、請求項1～8のいずれかに記載の測定装置。

【請求項10】 請求項1～9のいずれかに記載の2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置を用い、金属薄膜を区切り、分割した各金属薄膜上に異なる抗体や酵素等を固定化したセンサ膜を作製し、同一の被測定物質をセンサ膜に接触させることにより、または、分割した各金属薄膜に同じ抗体や酵素等を固定化したセンサ膜を作製し、それぞれに異なる被測定物質を接触させることによって、同時に多種類の化学物質の定量・定性を行うことを特徴とする、2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定方法。

【請求項11】 遺伝子を固定化したセンサ膜を作製

し、被測定物質として各種の化学物質を導入することによって、遺伝子に影響を与える化学物質を検知する、請求項10の測定方法。

【請求項12】 既知の配列を持った遺伝子を固定化したセンサ膜を作製し、被測定物質として未知の配列を持った遺伝子を導入することによって、反応を起こした金属薄膜表面での座標から未知の遺伝子の配列を検知する、請求項10の測定方法。

【請求項13】 生体物質を固定化したセンサ膜を作製し、被測定物質として各種の化学物質を導入することによって、生体物質に影響を与える化学物質を検知する、請求項10に記載の測定方法。

【請求項14】 金属薄膜上の被測定物質の屈折率分布を測定する、請求項10～13のいずれかに記載の測定方法。

【請求項15】 請求項1～9のいずれかに記載の2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置を用い、金属薄膜上に生物や細胞が取りこむ物質または排出する物質に感応する抗体や酵素等を配置もしくは固定化したセンサ膜を作製し、その上に生物や細胞を置くことによって、その代謝の様子を測定することの特徴とする、2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、光学系を用いて被測定溶液中の特定物質を定量あるいは定性的に測定する表面プラズモン共鳴測定装置および測定方法に関するものである。詳しくは、被測定物質に接した金属薄膜での表面プラズモン共鳴現象を利用して、液体やガスなどの被測定物質の屈折率変化を検知し定性・定量測定を行うものであり、金属薄膜面の2次元測定を可能とする測定装置、および、その測定方法に関する。

【0002】

【従来の技術】従来、化学プロセス計測、環境計測や臨床検査等で呈色反応や免疫反応を利用した測定が行われている。しかしこのような測定方法では、被測定物質をサンプル抽出する必要があるほか、煩雑な操作や標識物質を必要とするなどの問題がある。これに対し、標識物質を必要とすることなく、高感度で被測定物質中の化学物質の定性・定量測定の可能なセンサとして光励起表面プラズモン共鳴現象を利用したセンサが提案・実用化されている。以下、表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance) をSPRと略して用いることもある。

【0003】SPRセンサを構成するシステムとしては、例えば図1に示すように、光源1から発した光をp偏光光のみを通す偏光板2、及び集光レンズ3を通し高屈折率プリズム4にある入射角を持って入射させ、被測定物質6に接するセンサ膜を有した金属薄膜5に照射し、金属薄膜5からの反射光の強度変化をプリズム4を

通して光電子検出器7で検出するシステムが一般的である。

【0004】光源1から発した光は、プリズム4と金属薄膜5の界面でエバネッセント波を生起させ、その波数は次式により定義される。

$$k_{ev} = k_p \cdot n_p \cdot \sin \theta$$

ここで、 k_p は入射光の波数、 n_p はプリズムの屈折率、 θ は入射角である。

【0005】一方、金属薄膜5の表面では、表面プラズモン波が生じ、その波数は次式により定義される。

$$k_{sp} = (c/\omega) \cdot \sqrt{(\epsilon n^2 / (\epsilon + n^2))}$$

ここで、 c は光速、 ω は角振動数、 ϵ は金属薄膜の誘電率、 n は被測定物質の屈折率である。

【0006】このエバネッセント波と表面プラズモン波の波数が一致する入射角 θ のとき、エバネッセント波は表面プラズモンの励起に使われ、例えば図2に示すように、反射光として観測される光量が減少する。

【0007】SPR現象は、プリズム・金属薄膜に接した被測定物質の屈折率に依存するために、例えば、被測定物質を水とした場合、図2に示すようにある一定の角度で極小を持つ曲線として検出することができ、被測定物質の化学的濃度変化による屈折率変化等を測定するばかりか、金属薄膜上に抗体等を固定化することにより、抗原と結合した抗体の屈折率変化を測定することにより、特定物質の定量を行うことができる。

【0008】しかし、近年、被測定物質の屈折率分布の測定、および、多試料の測定への対応が要求されている。

【0009】そこで、被測定物質の屈折率分布を測定するために、図3に示すように、光源1からの光を偏光板2を通し入射された光をレンズ3で平行光へと変換し、プリズム4を通して領域を持った金属薄膜5上の被測定物質6のSPR現象をCCD (charge-coupled device) カメラ7で測定する装置が提案されている。もちろん、平行光はひとつの入射角しか持たないために、入射角と反射角とを常に同期して駆動しうる機構が必要である。しかし、図3のようなシステムの装置では、ある角度を持って反射した光を観測するために、実際の測定面、例えば図4(a)に示すように金属薄膜5a (例えば、金の薄膜) が2次元配列された計測面と、観測されるデータ取得面5b (図4(b)) とではアスペクト比 (縦横比) が異なるという問題があった。

【0010】また、多試料の測定への対応については、入射光を並列に並べ、試料を入れるためのセルを同じく並列に並べることによって、数個の試料を同時に測定する装置が知られているが、それ以上の同時測定は不可能であり、限界がある。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】本発明はこのような現

状に鑑みてなされたものであり、その課題は、アスペクト比を補正する機能を有することと特徴とし、被測定物質の実際のアスペクト比に合致した測定データの得られる2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置を提供することにある。さらに、本発明の別の課題は、本発明による装置を使用した抗体抗原反応などの生体物質や遺伝子の多チャンネル測定、生物や細胞の物質の代謝などの様子を測定する方法を提供することにある。

【0012】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するために、本発明は、2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置において得られる画像が、被測定物質のアスペクト比と同じに得られるようにアスペクト比補正機能を加えたものである。すなわち、本発明に係る2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置は、被測定物質に接する金属薄膜を表面上に備えたプリズムと、光源からの光をp偏光光の平行な光束としてプリズム側から入射させる光学手段と、金属薄膜からの表面プラズモン共鳴現象による吸収を含んだ反射光の2次元の受光光量を測定する受光手段とを有し、前記入光手段により光束を前記金属薄膜の面に対し斜めに入射することによる、反射光のアスペクト比の被測定物質の金属薄膜への接触面におけるアスペクト比に対する歪みを補正する手段を備えたことを特徴とするものからなる。

【0013】アスペクト比補正には、受光手段の光検出器で検出されたデータをコンピュータなどの演算装置を用いて補正を行う演算方法と、反射光が光検出器に入る前に光学的手段で補正を行うものと、光検出器そのものの位置を常に補正するように駆動させる機械的方法が考えられる。

【0014】このようなアスペクト比の補正によって、被測定物質と同じアスペクト比の画像が得られ、2次元イメージセンサとしての応用が可能となる。

【0015】本発明に係る2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定方法は、上記のような2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置を用い、金属薄膜を区切り、分割して各金属薄膜上に異なる抗体や酵素等を固定化してセンサ膜を作製し、同一の被測定物質をセンサ膜に接触させることにより、または、分割した各金属薄膜に同じ抗体や酵素等を固定化したセンサ膜を作製し、それぞれに異なる被測定物質を接触させることによって、同時に多種類の化学物質の定量・定性を行うことを特徴とする方法からなる。すなわち、多チャンネルセンサとして使用できるように金属薄膜に区切りを形成し、それぞれに区切られた金属薄膜に、異なる抗体や酵素等を固定化したり異なる試料を乗せられるようにしたものである。

【0016】

【発明の実施の形態】以下に、本発明の各実施の形態を、図面を参照しながら説明する。本発明の第一の特徴

はアスペクト補正機能を付与した点である。演算方式によるアスペクト比補正機構として、図5にその例を示す。金属薄膜5からSPR吸収を含んだアスペクト比が正常でない反射光を一旦CCDカメラ9などで検出し、検出した画像をコンピュータ10などの演算処理装置で適切なアスペクト比に補正する。セル8内の試料6（被測定物質）の実際の計測面12に対し、CCDカメラ9で観測されるデータは画像13のように歪むが、コンピュータ10によって実際の計測面12と同じ画像14にアスペクト比が補正される。ただし、この方法ではCCDの画素密度により補正時に画像が粗くなることがあり、適切な画像の補完処理が必要となる場合がある。

【0017】光学的手段によるアスペクト比補正機構として、シリンドリカルレンズ、もしくはそれを組合せたアナモフィックレンズ、プリズムを組合せたシステム等を使用できる。図6にそのシステムの例を示す。金属薄膜5から反射されたアスペクト比の正常でない光束を、アナモフィックレンズを使用したアスペクト比補正機構、あるいは補正用のプリズムを組合せ使用したアスペクト比補正機構11を通してCCDカメラ9などで検出することにより、アスペクト比が実際の試料と同じ画像14を得ることができる。

【0018】以上の2つのシステムでは、入射角度によって反射光のアスペクト比が異なるために、その補正值を自由に換えられることが必要となってくる。

【0019】機械的方法によりアスペクト比を校正する方法として、例えば、図7、図8に示すような機構を使用できる。図において、入射光側では、光源1、レンズ2、偏光子3はアーム15に取りつけられている。出射光側にはアーム16が取り付けられており、両アーム15、16には、2本のアーム17がジョイント部18で連結されたリンク機構からなる補助機構が取り付けられており、入射光に対して、アーム16が常に入射光に沿って駆動するようになっている。そして、さらにアーム19を取りつけることができる。このアーム19は金属薄膜面に常に平行であり、アーム19の出射光側に2次元の受光素子7（受光器）を取りつけてある。各部のジョイント部分は可動でアーム19とアーム15の接合部は、アーム19に細長い穴があいておりスライド可能となっている。アーム17のジョイント部18は試料に対して垂直なガイド上を動く。この方法によれば、図7、図8に示すように入射光の角度を変えても、受光素子7は常に金属薄膜面に平行になり、入射角度の変化に伴う出射光の角度変化にも追従していることがわかる。この受光素子7上には特別なアスペクト比変換機構なしに常に正常なアスペクト比を持った画像を得ることができる。

【0020】本発明では、光源として光ファイバを用いることができる。単なるLED光源やLD光源では出射光量のプロファイルが均一でなく、金属薄膜に入射する

とき明るさに斑ができてしまうという欠点があった。一度、光ファイバに光を通すことによって、ある程度均一な出射光量のプロファイルが得られ、均一な光束として金属薄膜面に光を当てることが可能となった。また、角度誤差のない平行光を得るためには点光源が必要であるが、光ファイバの光出射端を光源として選択すれば、目的に応じてコア径を数 μm から数百 μm まで選択することができる。

【0021】また、本発明においては、図9～図11に示すような工夫を加えることもできる。図9においては、例えば単色平行光を出射する熱的光源31からの平行光を偏光子32を通し、プリズム33を通した金属薄膜34からの反射光も偏光子35を通して、CCDカメラ36で画像を得る。偏光子32、35を組合せることによって解像度を上げることが可能になる。

【0022】図10においては、白色平行光を出射する熱的光源41を用い、白色光を使用することによりスペクトル変化を見ることができるようになっている。プリズム42を通して金属薄膜43からの反射光を、2次元画像分光システム44やイメージング分光器とビエゾ駆動を組合せて観測することにより、取得されるデータのスペクトル変化を見ることができる。

【0023】図11においては、例えば半導体レーザ光源51から格子状のレーザビーム52を出射し、プリズム53を通して金属薄膜54からの反射光をCCDカメラ55で画像として得るようになっている。格子状のレーザビーム52を、例えば、マトリックス状に区画された各金属薄膜54に対し個々に当てることにより、多チャンネルの同時測定が可能になる。

【0024】本発明は、上記のような2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置を使ったマルチチャンネルセンサとしての測定方法を提供する。その方法は、例えば、金属薄膜を分割した上に、それぞれ異なる物質に感応する抗体や酵素等を固定化し、一度に多種類の物質を定性・定量できるというものである。もしくは、分割した金属薄膜上に同じ抗体や酵素等を固定化しておき、異なる被測定物質をそれぞれに加えて定性・定量を行うものである。

【0025】測定に用いる金属薄膜は、例えば図12に示すような構造をしており、分割された金属薄膜21が各々独立して透明体20上に配置しているものや、金属薄膜21を高分子22などで区切る構造などに構成できるが、その形状、材質等は特に限定されるものではない。

【0026】金属薄膜の分割の方法は、（1）金属薄膜を付けるときにマスクを使用する、（2）金属薄膜の上に光感応性樹脂などの高分子でパターンを作製する、（3）あらかじめパターンのついた高分子シートを貼り付ける、などの方法が考えられるが、それぞれの露出した金属薄膜に異なる抗体や酵素等を固定化したり、異なる

る被測定物質を導入することを考えると、金属薄膜の間には区切りがあったほうが望ましい。

【0027】以上のように作製した区切られた金属薄膜には、図13に示すように異なった抗体や酵素等23を固定化し、さらに被測定物質24を加えることにより、試料中に固定化した抗体や酵素等に反応する抗原などが含まれていれば、図14に示すようにその抗体や酵素等を固定化した部分26でSPR角度の変化が生じ、他の部分25とは異なって見える。このように、被測定物質中の成分をそれぞれの抗体や酵素等に反応する物質について多成分分析することができる。

【0028】また、図15に示すように、すべてに同じ抗体23などを固定化しておき、異なる被測定物質24を加えれば、多種類の被測定物質中の1成分の検出が可能である。

【0029】さらに、2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置と、分割した金属薄膜を用いて、遺伝子の測定を行うことができる。

【0030】異なる配列を持つDNAの末端にチオール基等を修飾し、金属薄膜上に固定化する。被測定物質としてさまざまな化学物質を使えば、特定のDNAに与える影響を屈折率変化として捉えることができる。また、配列のわかっているDNAを金属薄膜上に固定化し、未知の配列を持つDNAを被測定物質とすれば、屈折率変化の生じた金属薄膜の座標から未知の遺伝子の塩基配列を知ることができる。

【0031】本発明ではさらに、本装置をイメージセンサとして用いることができる測定方法を確立した。金属薄膜上に単に、屈折率分布をもった物体を置いた場合でもそのまま屈折率分布やその形状を測定できるばかりでなく、図16のように、金属薄膜21上に生物や細胞などが取りこんだり排出する物質に感応する抗体や酵素等を固定化しセンサ膜を作製する。その上に生物や細胞27を配置する。すると、代謝により生物や細胞の周辺のSPRに変化が生じ、代謝の様子28や代謝しながら移動した跡29を図17のように測定することができるというものである。

【0032】

【実施例】以下、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されない。

実施例1

図5に示したような構造を持つ装置を作製し、測定を行った。光源はLEDとし、金属薄膜はプリズムと同じ屈折率のBK7のガラス板にスパッタ法により形成した。金属薄膜の区切りは、金属薄膜上に光感応性高分子を均一に塗布し、マスクを通して紫外線を照射することによって必要な部分を硬化させ、未硬化部分は有機溶媒で落として作製した。そのパターンは図12に示すような格子状のパターンである。金属薄膜をスパッタしたガラス板をマッティングオイルでプリズムに貼り付けて、被測定

物質を水として測定を行った。図18に示すように、アスペクト比未変換のCCDの生の画像は、左右方向に圧縮された画像となっているが、コンピュータで画像処理を施し、図19に示すような元の金属薄膜のパターンと同じアスペクト比を持つ画像が得られた。ここでは、水で表面プラズモン共鳴が起こるような入射角に固定しているので、高分子のパターンが無い部分（金属薄膜に直接、水が接している部分）は暗く映っている。

【0033】実施例2

図6に示すような構造を持つ装置を作製し、測定を行った。光源はLEDの光をマルチモード光ファイバに入射し、ファイバの中を伝送され、出射された光を用いた。アスペクト比変換部分にはプリズムを2つ使用したもので、各々のプリズムはモータで回転が可能で、アスペクト比は自由に変わることができる。入射角の変化によるアスペクト比変換の比率は自動で変わるようになっている。金属薄膜は実施例1と同じ方法で作製したのを用いて、被測定物質を水として測定を行った。測定結果は図20に示すように、元の金属薄膜のパターンと同じアスペクト比を持つ画像が得られた。

【0034】実施例3

実施例2の装置を使用して、金属薄膜は実施例1と同じ方法で作製したのを使用し、被測定物質を水とし、入射角度を走査しながら測定を行った。角度の変化により、アスペクト比変換機構の比率が自動で変化し、入射角度を変化させてもアスペクト比が金属薄膜と同じ画像が得られた。画像を観察すると、全反射、水によるSPRの吸収、全反射へと変化する様子が見られた。また、画像データから任意の点を指定し、その点での受光光量の変化を抽出し、その変化をグラフに表すことも可能である。

【0035】実施例4

実施例1と同じ方法で4つの領域(a、b、c、d)に区切った金の薄膜パターンを作製した。各金属膜はアビジンで修飾した。5'の位置をビオチンで修飾したDNAのTES緩衝溶液をマイクロディスペンサーで滴下し、ビオチン-アビジン結合によりDNAプローブを金属膜に固定化した。ここで、領域aにはビオチン-5'-GGCAGTGCCTCACAA-3'、領域bにはビオチン-5'-GGCAGTGGCTCACAA-3'、領域cにはビオチン-5'-GGCAGTGACTCACAA-3'、領域dにはビオチン-5'-GGCAGTGTCTCACAA-3'のDNAを固定化した。非特異的に吸着したDNAはNaOH溶液で洗浄した。作製したセンサーをSPR用のフローセルに組み込んだ。

【0036】次にターゲットNo. 1として5'-TTGTGAGGCACTGCC-3'のHEPES緩衝溶液をセンサに流しながらSPR測定を行ったところ、領域aの部分のみSPRシグナルの変化を観測することが

できた。これはターゲットNo. 1が領域aに固定化されたDNAと相補関係にあるために、ハイブリダイゼーションを起こしたためである。次に高濃度の尿素を流したところ、領域aの部分のSPRシグナルは他の領域と同じになった。尿素によって二重らせんがほどけセンサを再生することができた。同様にターゲットNo. 2として5'-TTGTGAGCCACTGCC-3'のHEPES緩衝溶液を流したところ、領域bの部分のみSPRシグナルの変化を観測することができた。

【0037】以上示したように、インターカラータや蛍光ラベルを使用することなくDNAを選択的に検出することができた。金薄膜をさらに多くの領域にわけ、異なるDNAを配置すれば、より多くの塩基の解析が可能になる。これにはフォトリソグラフィを応用した金薄膜上へのDNAの直接合成が利用できる。

【0038】実施例5

実施例1と同じ方法で5つの領域(a、b、c、d、e)に区切った金の薄膜パターンを作製した。領域aには西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)を含んだOsポリマー(BAS社製)を塗布し、その後ヒスタミン酸化酵素を固定化した。領域bには同じくHRPを含んだOsポリマーを塗布し、その後グルタミン酸酸化酵素を固定化した。領域cにはHRPを含んだOsポリマーを塗布し、その後、ラクテート(乳酸)酸化酵素を固定化した。領域d、eには参照計測として、それぞれ、Osポリマーのみと、何も塗布しない領域を設けた。

【0039】ヒスタミン酸化酵素はヒスタミンを分解し、過酸化水素を生成する。過酸化水素はHRPによって還元され水となり、HRP自身は酸化状態となり、Osの価数が2価から3価となる。グルタミン酸酸化酵素はグルタミン酸を、ラクテート酸化酵素はラクテートを分解し過酸化水素を生成し、同様の反応を起こす。

【0040】したがって、試料としてヒスタミンを加えれば領域aの明暗が変化し、グルタミン酸を加えれば領域bの明暗が変化し、ラクテートを加えれば領域cの明暗が変化する。試料として過酸化水素が含まれている場合、領域a、b、cともに変化してしまうが、領域dも明暗が変化するので検出が可能である。その変化する領域とその領域の受光光量から試料中のヒスタミン、グルタミン酸、ラクテート、過酸化水素の検出、定量をすることができる。また、高濃度の試料が流れてきても、領域a、b、c、dの明暗の反応領域と、領域eの受光光量変化から検出・定量することが可能である。

【0041】以上の方法で、金属薄膜の区切りをより多くし、固定化する酵素をより多くすることによって、より多種類の同時検出、定量が可能である。

【0042】実施例6

実施例2で作製した装置を用いて、ガラス板に金薄膜をスパッタしたものを計測チップとし、計測チップをプリズムの上にマッシングオイルで貼り付ける。そして、計

測チップの上に細胞を置く。すると、屈折率の違いから細胞の像を得ることが可能である。さらに、細胞の代謝にかかわる物質に特異的に反応する抗体や酵素等を固定化しておけば、細胞の代謝の様子も観察できる。

【0043】

【発明の効果】以上説明したように、本発明に係る2次元イメージング表面プラズモン共鳴測定装置及び測定方法によれば、SPR測定時の反射光のアスペクト比の歪みを適性に補正できるようにしたので、被測定物質の実際のアスペクト比に合致した測定データを正確に得ることができる。

【0044】また、金属薄膜を適切に区切って2次元SPR測定に供することにより、抗原抗体反応や遺伝子、生物や細胞の物質代謝などの様子を多チャンネルで測定することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】従来のSPRセンサの概略構成図である。

【図2】従来のSPRセンサで得られる測定結果の一例を示す特性図である。

【図3】従来の2次元SPRセンサの概略構成図である。

【図4】(a)は2次元SPRセンサに使用される金属薄膜パターンであり、(b)は上記パターンを従来の2次元SPRセンサで測定した場合の測定結果の概略図である。

【図5】本発明に係るアスペクト比をコンピュータで補正するシステムの概略構成図である。

【図6】アスペクト比を光学的手段で補正する場合のシステムの概略構成図である。

【図7】アスペクト比を機械的手段で補正する場合のシステムの概略構成図である。

【図8】図7のシステムを角度を変えた場合の概略構成図である。

【図9】本発明に係る別の形態を示す概略構成図である。

【図10】本発明に係るさらに別の形態を示す概略構成図である。

【図11】本発明に係るさらに別の形態を示す概略構成図である。

【図12】2次元SPRセンサに使用される金属薄膜パターンの概略図である。

【図13】異なる抗体や酵素等を固定化した多チャンネルセンサとしての応用を示す概略断面図である。

【図14】多チャンネルセンサの測定結果の一例を示す概略図である。

【図15】異なる試料を測定する多チャンネルセンサとしての応用を示す概略断面図である。

【図16】イメージセンサとしての応用の一例を示す概略図である。

【図17】図16のイメージセンサとして応用した時の

測定結果の概略図である。

【図18】実施例1におけるアスペクト比変換機構なしの場合の測定結果を撮影した図である。

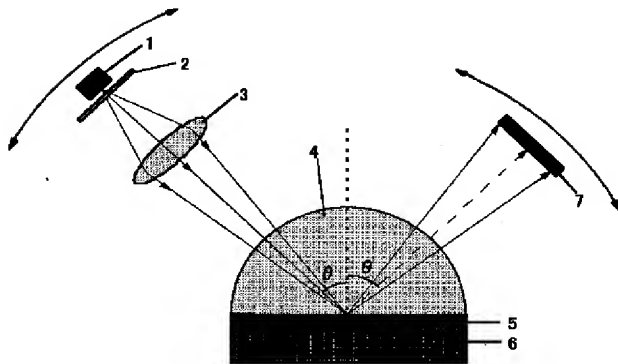
【図19】実施例1におけるコンピュータにてアスペクト比変換を行った場合の測定結果を撮影した図である。

【図20】実施例2におけるアスペクト比変換を行った場合の測定結果を撮影した図である。

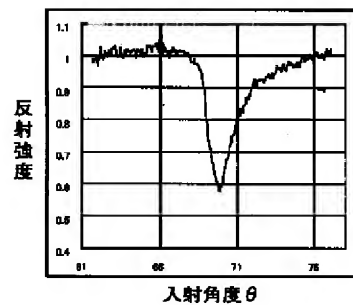
【符号の説明】

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| 1 光源 | 15 入射光側アーム |
| 2 偏光板・偏光子 | 16 出射光側アーム |
| 3 レンズ | 17 アーム |
| 4 プリズム | 18 ジョイント部 |
| 5 金属薄膜 | 19 アーム |
| 5a 計測面を形成する、複数の区切られた金属薄膜 | 20 透明体 |
| 5b 観測されるデータ取得面 | 21 分割された金属薄膜 |
| 6 試料(被測定物質) | 22 高分子 |
| 7 光電子検出器 | 23 抗体や酵素等 |
| 8 セル | 24 被測定物質 |
| 9 CCDカメラ | 25 抗体や酵素等を固定化していない部分 |
| 10 コンピュータ | 26 抗体や酵素等を固定化した部分 |
| 11 アスペクト比補正機構 | 27 生物や細胞 |
| 12 実際の計測面 | 28 生物や細胞などが代謝している部分 |
| 13 観測される歪んだ画像 | 29 代謝跡 |
| 14 補正された画像 | 31、41 熱的光源 |
| | 32、35 偏光子 |
| | 33、42、53 プリズム |
| | 34、43 金属薄膜 |
| | 36、55 CCDカメラ |
| | 44 2次元画像分光システム |
| | 51 半導体レーザ光源 |
| | 52 格子状のレーザビーム |
| | 54 マトリックス状に区画された金属薄膜 |

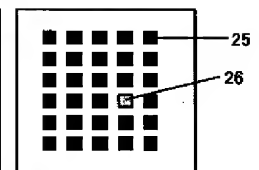
【図1】



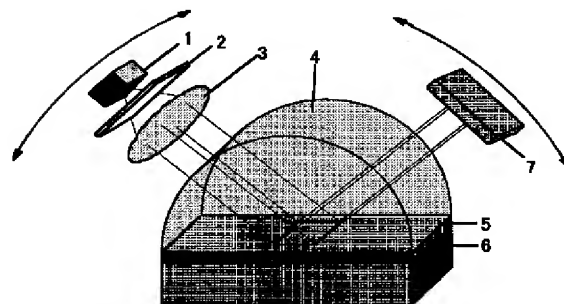
【図2】



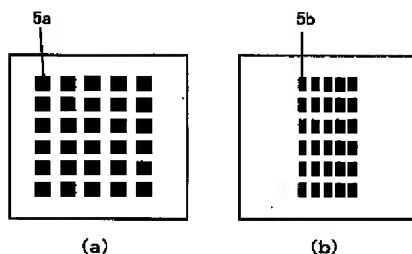
【図14】



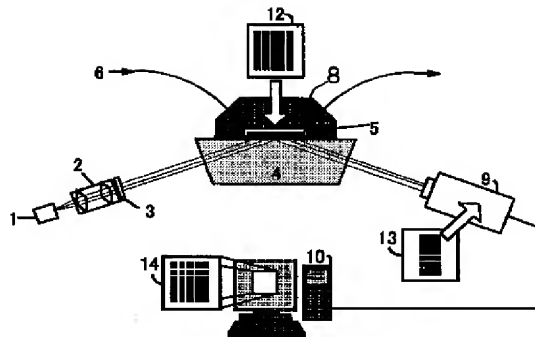
【図3】



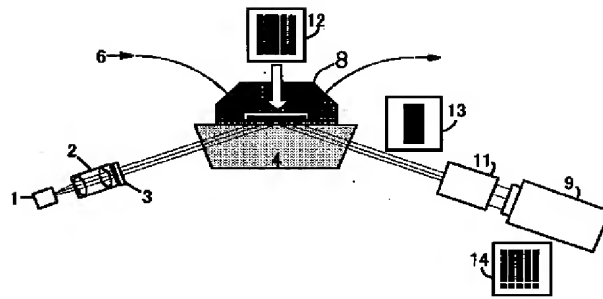
【図4】



【図5】

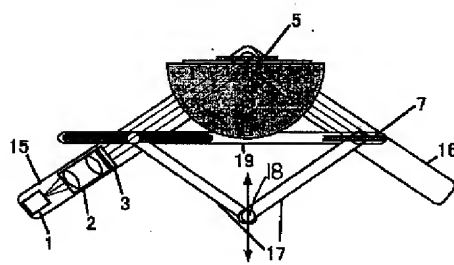


【図6】

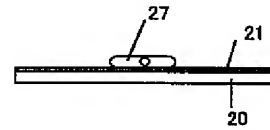
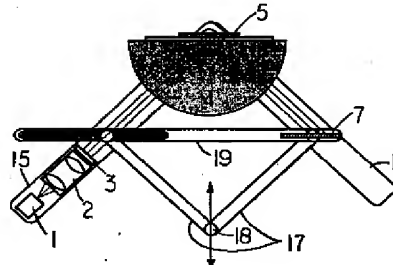


【図16】

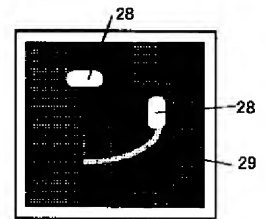
【図7】



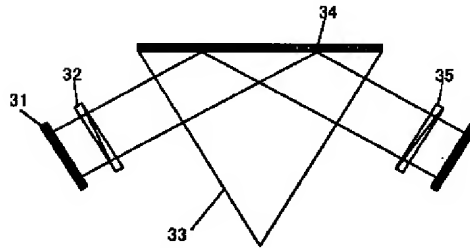
【図8】



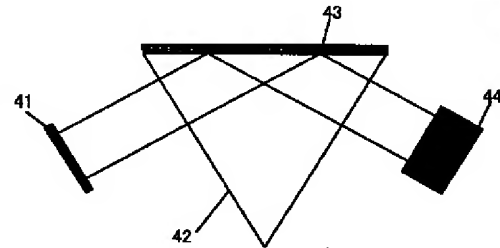
【図17】



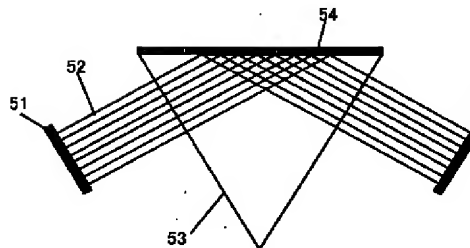
【図9】



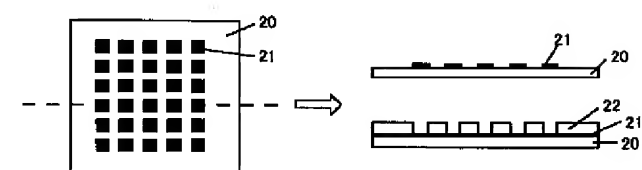
【図10】



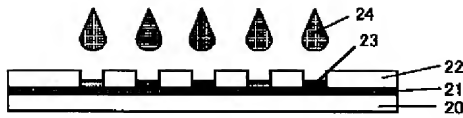
【図11】



【図12】



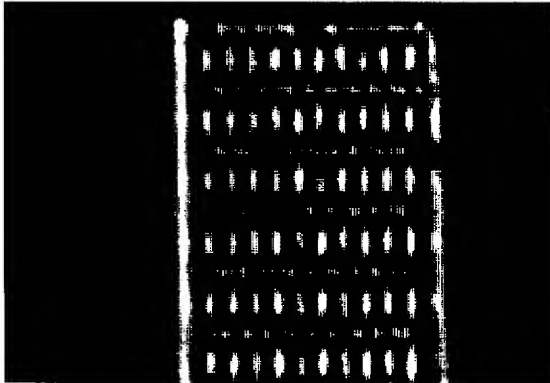
【図13】



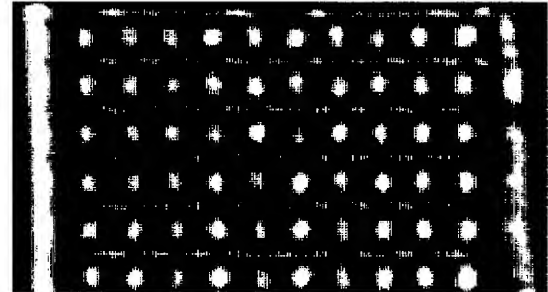
【図15】



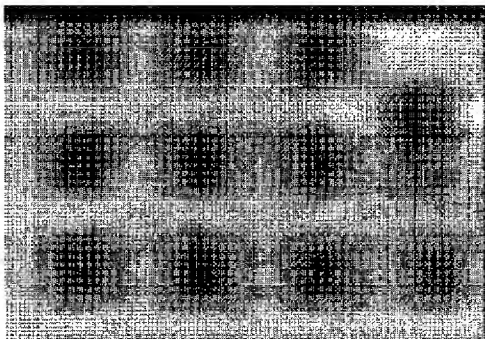
【図18】



【図19】



【図20】



フロントページの続き

(71)出願人 000102739
エヌ・ティ・ティ・アドバンステクノロジー株式会社
東京都新宿区西新宿二丁目1番1号
(72)発明者 鈴木 孝治
神奈川県川崎市幸区小倉1-1-A705号
(72)発明者 栗原 一嘉
神奈川県川崎市中原区井田杉山町13-22-202
(72)発明者 岩崎 弦
神奈川県厚木市長谷1182-1-5-408

(72)発明者 丹羽 修
神奈川県厚木市長谷1181-1-3-201
(72)発明者 堀内 勉
神奈川県厚木市長谷1182-1-3-206
(72)発明者 飛田 達也
東京都新宿区西新宿2-1-1 エヌ・ティ・ティ・アドバンステクノロジー株式会社内
(72)発明者 田部井 久男
東京都新宿区西新宿2-1-1 エヌ・ティ・ティ・アドバンステクノロジー株式会社内

F ターム(参考) 2G045 AA40 CB30 DA12 DA13 DA37
DA80 FA07 FA12 FB01 FB02
FB03 GC11 JA01 JA07
2G059 AA01 BB04 BB12 CC16 DD03
DD13 EE02 EE05 EE12 FF01
FF11 GG01 GG04 HH02 JJ11
JJ12 JJ17 JJ19 KK04 MM01
PP04